Aus dem Hygienischen Institut der Universität München.
Direktor: Geheimrat Professor Dr Kisskalt.

Lane Medical Library

Das Verhalten der Typen der Diphtherie-Bakterien auf synthetischem Nährboden

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde der Zahnheilkunde

verfaßt und einer

Hohen Medizinischen Fakultät der Bayerischen
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Erna Dornwass
approb. Zahnärztin
aus Treffurt a. d. Werra.

Buch- und Kunstdruckerei Wilh. Postberg, Bottrop i. W.
1936

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Bayerischen Ludwig-Maximilians-Universität
zu München.

Referent: Geheimrat Prof. Dr. Kißkalt.
Dekan: Prof. Dr. Kürten.

Tag der mündlichen Prüfung: 21. Februar 1936.

Meinen lieben Eltern
in Dankbarkeit gewidmet!

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153302_0004

Bei der Einteilung der Bakterien kann man u. a. von ihrem Verhalten gegen den menschlichen und tierischen Organismus ausgehen. Man unterscheidet zwei Hauptgruppen: die Saprophyten und die pathogenen Bakterien. Erstere sind in der Natur weit verbreitet. Sie stellen meist keine besonderen Ansprüche an die Temperatur und vermögen mit einfachen Nährstoffen auszukommen. Die pathogenen Bakterien dagegen sind durch Anpassung an den Wirtskörper meist sehr anspruchsvoll in bezug auf Temperatur und Ernährung. Sie vermögen nur bei Gegenwart von Eiweiß oder anderen organischen Stoffen biologische Leistungen zu vollbringen. Immerhin gibt es einige unter ihnen, die auf sehr einfachen Nährboden gedeihen und hochkomplizierte Substanzen wie Eiweiß, Fette und Wachse (Tbc. Baz.) aufbauen. Eingehend sind die *Diphtheriebakterien* in ihren Ansprüchen an den Nährboden studiert worden, da sie sich auf Nährböden mit anorganischen Substanzen und einfachen C-Quellen vermehren. In der letzten Zeit ist bei ihnen das Typenproblem in den Vordergrund gerückt, und viele Autoren haben sich mit der Typendifferenzierung beschäftigt.

Schon Zupnik in Prag vertritt auf Grund seiner im Jahre 1897 veröffentlichten Untersuchungen an einer großen Zahl teils frisch gezüchteter, teils älterer Diphtheriestämme den Standpunkt, daß die virulenten Diphtheriebakterien nicht einheitlich seien. Er unterscheidet färberisch und kulturell zwei verschiedene konstante Typen.

Hammerschmidt führt 1924 weiterhin eingehende Versuche über kulturelle Differenzierungsmöglichkeiten aus und findet drei reine Gruppen mit konstanten Eigenschaften und zwei sogenannte Mischformen, bei denen manche Merkmale wechseln können. Auffallend ist, daß er bei einer geringen Zahl von 50 Stämmen so viele Typen findet. Von weiteren Autoren werden einzelne interessante Stämme mit abweichendem Verhalten beschrieben.

Durand gelingt auf Grund der Ergebnisse des Agglutinations- und Absättigungsversuchs und der Kohlehydratvergärung eine Einteilung in fünf verschiedene Typen.

Auf Grund des serologischen Verhaltens wurden von Nikolas, Langer sowie Havens zwei, von Bell sowie Kliewe drei, von Park, Wiliams und Mann mindestens fünf, von J. Smith sieben, von Scott sowie Powell acht und von Eagleton und Baxter zehn Typen der Diphtheriebakterien festgestellt.

Dimitrijevic-Speth und Ljubomir Jovanovic unterscheiden zwei Arten. Eine „Haft"-Form, die die Bouillon klar läßt, ein örtlich begrenztes Krankheitsbild verursacht und eine „Schwärm"-Form, die die Bouillon trübt und zu fortschreitenden deszendierenden Prozessen (Croup) führt.

Eine eindeutige Differenzierung nach dem Wachstum auf festen und flüssigen Nährboden haben die Versuche der englischen Forscher Anderson, Happold, Mc. Leod und Thomson gegeben. Sie unterscheiden drei Typen und bezeichnen sie Typus gravis, Typus mitis und Typus intermediate.

Die Bezeichnung der einzelnen Typen geschah aus klinischen Gründen. Die späteren Untersuchungen ergaben jedoch, daß in klinischer Hinsicht nur zwei Krankheitstypen zu unterscheiden sind, da Typus intermedius die gleichen schweren Krankheitsbilder wie Typus gravis zu erzeugen vermag. Hettche schlägt daher eine Einteilung der Typen nach der Art der Säurebildung in Saccharosebouillon vor.

Gundel unterscheidet nach kulturellen (auf festen Nährböden) und mikroskopischen Verhalten drei Typen, die er I, II, III bezeichnet, die mit den von den englischen Forschern gefundenen Typen gravis, mitis und intermediate übereinstimmen. Es fragt sich nun, ob damit sämtliche Typen der Diphtheriebakterien erfaßt sind.

Von Christison wird schon darauf aufmerksam gemacht, daß atypische Formen auf festen Nährböden vorkommen. So fand Christison 8,1 Proz., Schiff und Werber 1,6 Proz., Gundel und Liebetruth 11 Proz., Robinson 1,5 Proz., Leete und seine Mitarbeiter 2,3 Proz., Carter 11,9 Proz. der untersuchten Kulturen als atypisch. Hettche stellt fest, daß außer den von den Engländern und Gundel gefundenen drei Typen noch zwei Unterformen abgetrennt werden können.

Zur Differenzierung der Typen scheint das Verhalten auf synthetischen Nährböden ein geeigneter Ausgangspunkt zu sein, da sich wahrscheinlich auf diesen Nährböden die biologische Leistungsfähigkeit in stärkeren Differenzen der Wachstumsintensität ausprägt. Wie schon die Untersuchungen von Hammerschmidt an den sogenannten eiweißarmen Hungernährböden

zeigten, ist die Möglichkeit die Typen zu unterscheiden am ehesten durch Nährböden gegeben, die nur die unbedingt lebensnotwendigen Nahrungsstoffe zu bieten vermögen. Da die Diphtheriebakterien am besten auf Eiweißnährböden gedeihen, lag es daher nahe, Versuche zur Typendifferenzierung mit synthetischen Nährmedien anzustellen. Am geeignetsten erschien der von Braun, Hofmeier und Mündel angegebene asparaginsaure Cystin-Azetatnährboden.

Die Züchtung der Diphtheriebakterien in synthetischen Nährmedien wurde schon früher von einigen Autoren, Uschinsky, Hadley, Gorham und Maver, versucht.

Braun, Hofmeister und Mündel stellen 1927 einen neuen synthetischen Nährboden für Diphtheriebakterien her:

Na_2SO_4	5	g
$MgSO_4$ oder Cl_2	0,05	g
KH_2PO_4	0,5	g
K_2HPO_4	1,5	g
Na asparagin.	5	g
Cystin	0,125	g
Aqua bidest. ad	1000	g

Cystin und Phosphate sind in ihrer Nährlösung lebensnotwendig für die Diphtheriebakterien, ebenso Natriumasparaginicum. Beim Fehlen eines dieser Nährstoffe bleibt die Vermehrung aus. Natriumazetat wirkt wachstumsfördernd. Kalium-, Chlor-, Magnesium- und SO_4 Ionen sind in der Nährlösung einzeln entbehrlich. Selbst beim gleichzeitigen Fehlen von Kalium-, Chlor-, Magnesium- und SO_4-Ionen ist das Wachstum der Diphtheriebakterien noch möglich.

Nicht alle geprüften Diphtheriestämme verhalten sich einheitlich bezüglich des Wachstums. Die Autoren unterscheiden zwischen „anspruchslosen“ und „anspruchsvollen“ Bakterien. Erstere vermehren sich in den angegebenen Nährböden, die letzteren dagegen nicht. Eine Toxinproduktion erfolgt nicht.

Im Anschluß an die Arbeiten von Braun, Hofmeier und Mündel beschäftigt sich Hans Schmidt mit der Frage, welche Bedeutung die Wasserstoffionenkonzentration für das Wachstum der Diphtheriebakterien in Braun'schen Nährböden hat und stellt fest, daß das Wachstumsoptimum innerhalb der Grenzen von pH 7,8—8,5 liegt. Es wird weiter klargelegt, daß das Cystin als Stickstoff- und Kohlenstoffquelle keine Bedeutung hat. Seine Lebensnotwendigkeit für die Diphtheriebakterien ist durch die in ihm enthaltene S—S-Gruppe bedingt. Versuche über Toxinproduktion zeigten, daß nur geringe Giftmengen gebildet werden.

In der vorliegenden Arbeit wird das Verhalten einer Reihe von Stämmen der Typen I, II und III (nach dem Verhalten auf Gundel—Tietz'schen Platten diagnostiziert) auf synthetischen Braunschen Nährböden geprüft. Die Fragestellung war:

1. Sind die von den verschiedenen Autoren festgestellten atypischen Stämme systematisch erfaßbar?
2. Beruhen die Mißerfolge bei der Züchtung einiger Diphtheriestämme auf Braun'schen Nährböden darauf, daß es sich um besondere Typen handelt?
3. Ist die Art des Wachstums in Bouillon abhängig von der Bouillon oder allgemeine Eigenschaft der Bakterien, die auch in synthetischen Nährmedien in Erscheinung tritt?
4. Sind die biologischen Leistungen (pH — Änderung, Vermehrung, Polkörnchenbildung) durch die Eiweißsubstanzen der Bouillon bedingt und lassen sich diese durch Kohlehydrate in synthetischen Nährböden beeinflussen?

Die methodisch wichtigen Tatsachen sollen kurz Erwähnung finden. Sterile Reagenzgläser wurden mit 2 ccm Nährlösung gefüllt, 20 Min. im Koch'schen Dampftopf sterilisiert, mit einer sehr geringen Menge (Nadelspitze) von der am Vortage angelegten Blutagarkultur aus beimpft und mit Paraffin verschlossen, um die Brutschrankluft auszuschalten. Es wurden stets 2 Röhrchen beimpft und ein unbeimpftes Kontrollröhrchen angelegt, die Wachstumsintensität wurde durch Vergleich des Trübungsgrades der Nährflüssigkeit mit Teströhrchen, die eine Staphylokokkenaufschwemmung enthielten, festgelegt. Trübungsgrad I entsprach einer Öse Staphylokokken auf 5 ccm steriler Kochsalz- und 2 Tropfen 40%iger Formalinlösung. Trübungsgrad II ergab sich durch Einbringung zweier Ösen Staphylokokken auf die gleich große Flüssigkeitsmenge. Die pH-Bestimmung erfolgte mit der Gaskette. Die für das Wachstum der Diphtheriebakterien günstigste pH liegt nach S c h m i d t im Bereich von 7,8—8,5. Der Gehalt des Braun'schen Nährbodens an primärem und sekundärem Phosphat macht ihn zu einem Puffergemisch von bestimmter H-Ionenkonzentration (pH 6,9—7), die man aber durch Veränderung des Mengenverhältnisses des primären und sekundären Phosphates (Soerensen) variieren kann. Von zwei Phosphaten wurden 1/37,5 molare Lösungen hergestellt und im Verhältnis von 8,5 ccm primärem Kaliumphosphat zu 91,5 ccm sekundärem Natriumphosphat gemischt und eine pH von 7,95 erhalten. 100 ccm des Phosphatgemisches wurden zu 100 ccm folgender Lösung hinzugefügt:

Natriumsulfat	1,0	g
Natriumazetat	1,0	g
Natrium asparaginicum	1,0	g
Magnesiumchlorid	0,01	g

und zu 200 ccm der Lösung 0,025 g Cystin gegeben. Die End-pH unterschied sich dann nur unwesentlich von der Pufferlösung.

In dieser Nährlösung wurde das Verhalten von 34 Diphtheriestämmen untersucht. Die Diagnostizierung der einzelnen Typen erfolgte wie schon angegeben auf dem Nährboden von Gundel und Tietz. Es handelte sich dabei um frisch vom Menschen gezüchtete Diphtheriebakterien.

I. Versuche auf rein synthetischen Nährböden.

Zwei Stämme 1 und 9 des Types I wurden im Verlauf von 15 Tagen in bezug auf ihren Säuerungscharakter untersucht. Es zeigte sich, daß der pH Wert von 7,95 im Laufe von 7 Tagen allmählich auf 8,15 anstieg, um dann auf 7,80 am 15. Tage abzufallen.

Nach diesem Vorversuch wurden sämtliche 34 Stämme in synthetischem Nährboden bezüglich ihres Säuerungscharakters, Art des Wachstums und Morphologie nach 5tägiger Bebrütung untersucht. Es zeigten sich folgende Ergebnisse:

Tabelle 1

Typ I		Typ II			Typ III		
	pH		pH	Trbgrd.*		pH	Trbgrd.*
Kontrolle	7,75						
1.	7,85	1.	8,35	V	1.	8,00	II
2.	7,95	2.	8,25	VI	2.	7,80	I—II
3.	8,05	3.	8,33		3.	8,10	II
4.	8,00	4.	7,70	I—II	4.	7,80	I—II
5.	7,98	5.	8,25	III	5.	7,80	II
6.	8,04	6.	8,10	II	6.	7,97	II
7.	7,90	7.	8,55	VII	7.	7,95	II
8.	7,95	8.	8,15	I—II	8.	7,03	II
9.	8,05	9.	8,03	I	9.	7,75	II
		10.	8,10	I—II	10.	7,80	II
		11.	8,05	IV			
		12.	8,07	II			
		13.	7,70	I			
		14.	8,01	I			
		15.	8,02	III			

* Trübungsgrad.

Die Durchschnitts-pH für die Typen:
I. ph = 7,97; II. pH = 8,10; III. pH = 7,89.

Es zeigt sich, daß Typ I keine Veränderung und Typ III eine geringe Veränderung gegenüber dem Ursprungs-pH der Lösung 7,96 bietet. Bei Typ II ist ein leichter Übergang in den alkalischen Bereich zu finden.

Typ I und III bieten ein einheitliches Bild. Die Differenz zwischen den höchsten und tiefsten pH-Werten der einzelnen Stämme, die pH-Differenz, ist gering. Sie beträgt bei I 0,20; bei III 0,35. Typ II dagegen verhält sich nicht gleichmäßig. Die pH-Werte liegen bei einigen Stämmen höher, bei anderen niedriger als bei den Stämmen von I und III, daraus resultiert eine pH-Differenz von 0,85.

Art des Wachstums.

Typ I. Es zeigten alle Stämme ein gleichmäßig gutes Wachstum, einen krümeligen, dichten Bodensatz, der beim Umschütteln eine körnige Trübung, die mit vorliegendem Test zur Bestimmung des Trübungsgrades nicht zu erfassen war, ergab. Eine Häutchenbildung an der Oberfläche erfolgte nicht.

Typ II. Bot kein einheitliches Bild. Alle Stämme zeigten eine Trübung der Flüssigkeit und einen schleimigen Bodensatz. Die Dichte des Bodensatzes und der Trübungsgrad war nicht bei allen gleich, wie aus der Tabelle 2 hervorgeht.

Typ III. Alle Stämme hatten die Nährlösung klar gelassen. Es zeigte sich ein feiner sandartiger Bodensatz, der beim Aufschütteln eine schwache Trübung der Flüssigkeit ergab.

Morphologie.

Typ I. 1, 2, 3, 4, 5 mittellange Stäbchen, teils mit, teils ohne PK *; 6 sehr kurze Stäbchen zu zweien bis vieren gelagert, wenig PK. 7, 8, 9 kokkoide Form, vereinzelt mit kräftigen PK.

Typ II. 1—16 kurze bis mittellange Stäbchen, meist ohne PK.

Typ III. 1, 2, 3, 4, 5, 6 lange segmentierte Formen und kürzere kokkoide, in Haufen gelagerte Formen. 7 sehr lange Birnenformen. 8, 9 plumpe, lange und mittellange Stäbchen, teilweise mit bräunlichem PK, schwach gefärbte kokkoide Kugelstäbchen. 10 mittellange segmentierte, vereinzelt plumpe Formen.

Aus der Tabelle 1 geht hervor, daß einzelne Stämme des Types II und alle Stämme des Types III ein schlechtes Wachstum zeigten. Es lag deshalb nahe, den Einfluß von Eiweißabbaustoffen auf das Wachstum der Typen der Diphtheriebakterien in Braunschen Nährböden zu prüfen. Es wurde dem synthetischen Nährmedium Witte-Pepton in absteigendem Prozentsatz zugefügt.

* Polkörnchen.

II. Versuche auf synthetischem Nährboden mit Witte-Peptonzusatz.

a) 0,5 % Witte-Pepton.
Ursprünglicher pH-Wert 7,95.

Tabelle 2.

pH-Wert und Trübungsgrad nach dreitägiger Bebrütung.

Typ I		Typ II			Typ III		
	pH		pH	Trbgrd.		pH	Trbgrd.
Kontrolle	7,60						
1.	9,16	1.	8,38	VII	1.	8,40	III
2.	9,20	2.	8,50	VII	2.	8,45	VI
3.	9,15	3.	8,53	VIII R*	3.	8,20	VI
4.	9,20	4.	8,48	VII R	4.	8,40	III
5.	9,00	5.	8,45	VIII R	5.	8,52	III
6.	9,05	6.	8,48	VII R	6.	—	
7.	9,05	7.	8,52	VII R	7.	8,25	II
8.	9,03	8.	8,48	VII	8.	8,42	V
9.	9,07	9.	8,60	VIII R	9.	8,45	VI
		10.	8,74	VIII R	10.	8,02	III
		11.	8,55	VIII			
		12.	8,48	VIII			
		13.	8,45	IX R			
		14.	8,53	VIII			
		15.	8,64	VIII R			

Der Durchschnitts-pH-Wert für die einzelnen Typen war: I pH = 9,11; II pH = 8,52; III pH = 8,34.

Bei allen Typen erfolgte eine Alkalibildung. Sie ist bei Typ I besonders stark ausgeprägt. Die pH-Differenzen sind gering, sie betragen für I. 0,17; II. 0,36; III. 0,43.

Art des Wachstums.

Typ I. Zeigte bei allen Stämmen gleichmäßig ein außerordentlich starkes Wachstum, Bildung eines Oberflächenhäutchens, eines krümeligen Bodensatzes und dicker körniger Flocken innerhalb der Nährlösung.

Typ II. Bot ein einheitliches Bild, alle Stämme wuchsen gut. Einige zeigten eine Ringbildung an der Oberfläche, alle eine Trübung der Lösung und dicken schleimigen Bodensatz.

Typ III. Bildete einen feinen sandartigen Bodensatz, nach Aufschütteln desselben zeigte sich eine gleichmäßige Trübung der Lösung. Nicht alle Stämme verhielten sich einheitlich. Sie boten geringe Unterschiede bezüglich des Trübungsgrades.

Morphologie.

Typ I. Kurze und mittellange Stäbchen, teils mit schwachen, teils mit guten PK.

*) Ringbildung.

Typ II. Mittellange Stäbchen, vereinzelt mit und ohne PK.

Typ III. Vorwiegend Birnenformen, vereinzelt Kokkenformen und mittellange Stäbchen.

Je vier Stämme der einzelnen Typen, die sich auf synthetischem Nährboden mit 0,5 % Witte-Peptonzusatz unterschiedlich verhalten hatten, wurden auf synthtischem Nährboden, dem 0,1 % bzw. 0,01 % Witte-Pepton zugesetzt war, 3 Tage bebrütet.

b) 0,1 % Witte-Pepton.

Der Durchschnitts-pH-Wert für die einzelnen Typen war: I pH = 8,69; II pH — 8,53; III pH = 8,47.
Die pH-Differenz war für I 0,02; II 0,15; III 0,11.
Der Trübungsgrad betrug gleichmäßig für Typ II = VII, für Typ III = V.

c) 0,01 % Witte-Pepton.

Der Durchschnitts-pH-Wert für die eizelnen Typen war: I pH = 8,66; II pH = 8,52; III pH = 8,43.
Die pH-Differenz betrug: für I 0,25; II 0,08; III 0,08.
Der Trübungsgrad war gleichmäßig für Typ II = V; und für Typ III = III.

III. Versuche auf synthetischem Nährboden mit Zuckerzusatz.

a) 1 % Glukose.

Ursprünglicher pH-Wert 7,80.

Tabelle 3.

pH-Wert und Trübungsgrad nach 5tägiger Bebrütung.

Typ I		Typ II			Typ III		
	pH		pH	Trbgrd.		pH	Trbgrd.
Kontrolle	7,10						
1.	5,55	1.	5,98	VI	1.	7,20	I
2.	5,45	2.	5,70	VII	2.	7,40	I—II
3.	5,68	3.	5,58	VI	3.	7,50	II
4.	5,50	4.	5,48	VI	4.	7,20	II—III
5.	5,57	5.	6,08	VI	5.	7,55	I—II
6.	5,54	6.	6,60	VI	6.	7,52	I
7.	5,47	7.	5,60	VI	7.	7,55	I—II
8.	5,45	8.	6,10	VI	8.	7,00	II
9.	5,69	9.	6,23	VI	9.	7,40	I—II
		10.	5,50	VI	10.	7,20	I—II
		11.	5,58	VI			
		12.	5,74	I—II			
		13.	6,10	II			
		14.	5,68	VI			
		15.	6,80	IV			

Der Durchschnitts-pH-Wert für die einzelnen Typen ist: I pH = 5,54; II pH = 5,91; III pH = 7,34.

Bei Typ I und II erfolgt eine starke Säurebildung, bei III nur eine leichte Verschiebung der pH nach der sauren Seite. Die pH-Differenz beträgt: I = 0,24, II = 1,02, III = 0,55.

Morphologie.

Typ I. Kurze und sehr kurze Stäbchen ohne PK.

Typ II. Zarte Stäbchen ohne PK, mittellange Stäbchen, vereinzelt Diploformen ohne PK.

Typ III. Mittellange septierte Stäbchen, lange und mittellange Stäbchen ohne PK, kokkoide Formen, meist Diplokokkenformen ohne PK.

b) 1% Saccharose.

Ursprünglicher pH-Wert 7,80.

Tabelle 4.

pH-Wert und Trübungsgrad nach 5tägiger Bebrütung.

Typ I		Typ II			Typ III		
	pH		pH	Trbgrd.		pH	Trbgrd.
Kontrolle	7,65						
1.	8,63	1.	8,52	VI	1.	7,55	I
2.	8,48	2.	8,50	VIII	2.	7,68	I
3.	8,58	3.	7,50	VI	3.	7,56	I
4.	8,49	4.	8,50	VI	4.	7,55	I
5.	8,53	5.	7,82	I—II	5.	7,56	I—II
6.	8,51	6.	7,79	I	6.	7,65	I
7.	8,48	7.	8,40	V	7.	7,54	I—II
8.	8,57	8.	8,05	II	8.	7,55	I—II
9.	8,45	9.	8,45	II	9.	7,65	I—II
		10.	7,20	III	10.	7,60	I
		11.	7,55	I			
		12.	7,53	I			
		13.	7,48	II			
		14.	7,75	II			
		15.	7,98	II			

Der Durchschnitts-pH-Wert für die einzelnen Typen ist: I pH = 8,52; II pH = 7,93; III pH = 7,59.

Die pH-Differenz beträgt: I 0,18, II 1,02, III 0,19.

Morphologie.

Typ I. Plumpe Kurzstäbchen, vereinzelt PK.

Typ II. Plumpe Kurzstäbchen ohne, vereinzelt mit PK, mittellange und lange Stäbchen ohne PK.

Typ III. Mittellange, vereinzelt lange Stäbchen ohne PK, plumpe und mittellange teilweise mit PK, vereinzelt kokkoide, lange und kolbige Formen ohne PK.

c) 1 % Laktose.

Ursprünglicher pH-Wert 7,92.

Tabelle 5.

p-H-Wert und Trübungsgrad nach 5tägiger Bebrütung.

Typ I		Typ II			Typ III		
	pH		pH	Trbgrd.		pH	Trbgrd.
Kontrolle	7,66	1.	8,20	I			
1.	8,20	1.	8,10	VII	1.	7,63	I
2.	8,20	2.	8,07	VII	2.	7,75	I
3.	8,22	3.	8,04	VII	3.	7,68	I
4.	8,77	4.	8,20	VII	4.	7,60	I
5.	7,90	5.	7,70	V	5.	7,50	I
6.	8,10	6.	7,72	IV	6.	7,60	I
7.	8,10	7.	8,20	VII	7.	7,58	I
8.	7,90	8.	—	II	8.	7,49	I—II
9.	8,10	9.	8,02	V	9.	7,50	I
		10.	8,12	VII	10.	7,50	I
		11.	7,79	II—III			
		12.	7,69	I			
		13.	7,65	II			
		14.	7,68	II			
		15.	7,70	II			

Der Durchschnitts-pH-Wert für die einzelnen Typen ist: I pH = 8,10; II pH = 7,82; III pH = 7,58.

Die Werte zeigen, daß bei I und II eine geringe Alkalibildung erfolgt, bei III tritt kaum eine Veränderung des pH-Wertes ein. Die pH-Differenz beträgt: I 0,32, II 0,5, III 0,19.

Morphologie.

Typ 1. Kurze und mittellange, meist septierte Stäbchen, kräftige PK.

Typ II. Mittellange, septierte Formen, teilweise kräftige PK.

Typ III. Lange septierte Stäbchen ohne PK, teilweise Birnenformen ohne PK.

Art des Wachstums.

Bei Zusatz von 1 % Glukose, Saccharose und Laktose verhielten sich die Typen einheitlich in der Art des Wachstums.

Typ I. Zeigte eine Häutchenbildung an der Oberfläche, einen krümeligen Bodensatz und eine flockig körnige Trübung der Lösung, die in allen Stämmen gleich war.

Typ II. Bei Typ II bestand eine Differenz in der Art des Wachstums unter den einzelnen Stämmen. Einige wuchsen üppig, während andere nur mittelmäßiges, bzw. geringes Wachstum boten. Es zeigte sich bei allen ein schleimiger Bodensatz und eine homogene Trübung der Lösung.

Typ III. Wies ein äußerst geringes Wachstum auf. Er hatte einen feinen sandartigen Bodensatz und nach Aufschütteln desselben zeigte er eine geringe Trübung der Lösung.

Zwei Vertreter des Types I wurden auf ihr Verhalten in synthetischem Nährboden mit 1%igem Zusatz anderer Zuckerarten geprüft. (Tabelle 6 und 7.)

Tabelle 6.

I. 9.

	Arabinose	Mannit	Galaktose	Glukose	Laevulose
pH nach 3 Tg.	7,75	7,78	7,20	5,87	6,08
Morphologie nach 3 Tg.	Mittell. Stbch. sehr gute PK	Mittell. Stbch. teilw. dicke PK	Plumpe teils ovoide Stbch. wenig PK	Kurzstbch. ohne PK	Mittell. Stbch. reichl. sehr gute PK
pH nach 6 Tg.	8,25	8,03	6,20	5,18	5,55
Morphologie nach 6 Tg.	Mittell. Stbch. gut. PK. Kurzstbch. o. PK	Kurzstbch. vereinz. PK	Mittell. Stbch. vereinz. PK	Kurzstbch. vereinz. PK	Kurze u. mittell. Stbch. viele kok. Formen; vereinz. kräft. PK
I. 1.					
pH nach 3 Tg.	8,00	7,81	7,23	6,20	5,84
Morphologie nach 3 Tg.	Mittell. Stbch. sehr gute PK	Mittell. Stbch. teilw. gut. PK	Mittell. Stbch. vereinz. PK	Kurzstbch. ohne PK	Mittell. Stbch. sehr gute PK
pH nach 6 Tg.	8,50	7,99	5,80	4,60	5,75
Morphologie nach 6 Tg.	Mittell. Stbch. mit gut. PK Kurzstbch. ohne PK	Kurzstbch. ohne PK	Mittell. Stbch. vereinz. PK	Kurze ovoide Stbch. o. PK	Mittell. Stbch. teilw. PK

Tabelle 7.

I. 9.

	Saccharose	Laktose	Maltose	Raffinose	Stärke
pH nach 3 Tg.	8,22	7,60	7,20	7,80	7,65
Morphologie nach 3 Tg.	Mittell. u. kurz. Stbch. wenig PK	Mittell. Stbch. gute PK	Kurze Stbch. wenig PK	Mittell. und plumpe Stbch. m. u. o. PK	Mittell. Stbch. vereinz. PK
pH nach 6 Tg.	8,15	8,28	5,65	8,10	8,45
Morphologie nach 6 Tg.	Mittell. Stbch. wenig PK	Mittell. Stbch. teilw. gut. PK	Kurzstbch. ohne PK	Mittell. Stbch. wenig PK	Kurzstbch. vereinz. PK
I. 1.					
pH nach 3 Tg.	8,23	8,10	7,20	7,70	7,66
Morphologie nach 3 Tg.	Kurzstbch. wenig PK	Mittell. Stbch. mit PK	Sehr kurze Stbch. wenig PK	Mittell. Stbch. gute PK	Mittell. Stbch. vereinz. kräft. PK
pH nach 6 Tg.	8,35	8,28	5,89	8,10	8,07
Morphologie nach 6 Tg.	Mittell. Stbch. vereinz. PK	Mittell. Stbch. teilweise kräft. PK	Kurzstbch. gute PK	Mittell. Stbch. vereinz. PK	Kurzstbch. teilweise gute PK

Besprechung der Ergebnisse.

Der Vergleich der pH-Werte im Vorversuch zeigt, daß in rein synthetischem Nährboden die Phosphatpufferung ausreicht, um die pH nahezu auf gleicher Höhe zu halten. Die Endwerte nach 15 Tagen unterscheiden sich kaum von der Anfangs-pH.

Vergleicht man in Tabelle 1 die pH - Werte sämtlicher Stämme und Typen, so ist auch hier der Schwankungsbereich nur pH 0,6 (pH 8,35 bei Typ II 1 und pH 7,75 bei Typ III 9). Es zeigt sich, daß das Wachstum von Typ I und von Typ III absolut einheitlich ist, während die Wachstumsintensität von Typ II große Unterschiede aufweist. Wenn hier auch pH-Wert und Trübungsgrad nicht streng parallel gehen, so zeigen doch die drei ersten Stämme mit stärkstem Trübungsgrad auch die höchsten pH-Werte.

Um festzustellen, ob die gleichen Wachstumsunterschiede auch auf hochwertigeren Nährböden eintreten, wurde unter gleichen Bedingungen ein Nährboden mit 0,5 % Witte-Pepton verwendet und nach 3tägiger Bebrütung untersucht, weil bereits in dieser Zeit ein sehr gutes Wachstum eingetreten war. In diesem Nährmedium zeigt Typ I starke Alkalibildung bei einheitlichem Wachstum. Auch bei Typ II ist das Wachstum so intensiv, daß feinere Unterschiede, abgesehen von Ringbildung, nicht mehr festzustellen sind. Dagegen zeigt Typ III große Differenzen.

Wird der Peptonzusatz auf 0,1 %, bzw. 0,01 % erniedrigt, so geht wohl die Wachstumsintensität zurück, bleibt aber bei einer Auswahl von Stämmen, die auf synthetischem Nährboden und synthetischem Nährboden mit 5% Witte-Peptonzusatz unterschiedlich wuchsen, unter diesen gleich. Es genügen also schon geringste Mengen von Eiweißabbaustoffen zur Förderung des Wachstums. Um das Wachstum einiger Stämme, die auf synthetischem Nährboden schlecht gedeihen, günstig zu beeinflussen, genügt selbst noch die geringe Menge von 0,01 % Witte-Pepton. Die verschiedene Art des Wachstums prägt sich gerade bei dem letzten Nährboden sehr stark aus, so daß er zur Typendifferenzierung verwendet werden könnte. Allerdings verschwinden die feineren Unterschiede, deshalb soll festgestellt werden, ob sie bei Zusatz von Zucker erhalten bleiben.

Alle Stämme der Typen I, II und III wurden in ihrem Verhalten gegen das Monosaccharid Glukose und die Disaccharide Laktose und Saccharose geprüft. Typ I zeigt wieder einheitliches Wachstum, wird durch alle drei Zuckerarten gefördert, aber nur Glukose führt zu starker Säurebildung. Daraus ist zu entnehmen, daß der Disaccharidabbau in einer anderen Weise erfolgt als der

der Monosaccharide. Bei 1%igem Saccharosezusatz wird eine schwache Alkalibildung beobachtet.

Typ II zeigt bei 1%igem Glukosezusatz eine ziemlich starke Säureproduktion, nur Stamm 12 und 13 unterscheiden sich in bezug auf die Wachstumsintensität von den übrigen. Die Disaccharide bewirken nur eine geringfügige pH-Änderung und zeigen unterschiedliches Verhalten in der Förderung der einzelnen Stämme. Es weisen die Stämme 1, 2, 3 und 7 ein gleichmäßig starkes, 8, 12, 13, 14, 15 ein schwaches Wachstum auf. Die restlichen Stämme werden von Laktose mehr gefördert als von Saccharose.

Bei Typ III wird durch Glukosezusatz vermehrte Säurebildung bewirkt, das Wachstum verläuft ohne größere Differenz.

An zwei Vertretern des Types I wird weiterhin das Verhalten auf synthetischem Nährboden, dem andere Zucker 1%ig zugesetzt sind, geprüft. Bis auf Mannit, das eine mittlere Wachstumsintensität aufweist, sind sämtliche Stämme gut gewachsen. Die Pentose, Arabinose und der Zuckeralkohol, Mannit, werden unter Veränderung nach der alkalischen Seite verwertet. Galaktose wird langsam, Glukose und Laevulose rasch unter Säurebildung verarbeitet. Von den Disacchariden wird nur Maltose unter Säuerung verwendet, das Trisaccharid Raffinose und das Polysaccharid Stärke finden unter Alkalibildung Verwertung.

Zusammenfassend läßt sich also sagen, daß nur Hexosen und die Maltose unter Säurebildung verarbeitet werden. Daraus geht hervor, daß Typ I zur Spaltung der Maltose in zwei Gluktosen befähigt ist.

Die Unterschiede der einzelnen Typen in der Morphologie sind bisher nur wenig beschrieben worden. Danach ließen sich Typ II zuweilen, Typ III dagegen immer in der Morphologie durch Wachstum auf Blutplatte unterscheiden. Auch in der vorliegenden Untersuchung fällt Typ III durch die Bildung langer, teilweise birnenförmiger Stäbchen aus, die sich in teilweise kokkenähnlichen Formen aufspalten. Die Bildung der PK, die von jeher für die Diagnose wichtig war, wird bei Typ III in keinem Fall beobachtet. Typ I und II zeigen auf synthetischem Nährboden eine mäßige Polkörnchenbildung, die durch Peptonzusatz gefördert wird. Der Zusatz von Zuckern übt einen wechselnden Einfluß aus.

Glukose verhindert völlig die Polkörnchenbildung, Galaktose nur teilweise, durch Mannit und Laevulose erfährt sie eine Förderung, auffallend dick sind die Polkörnchen bei Arabinose. Von Di- und Polysacchariden wirkt nur Laktose fördernd. Die

Säurebildung kann nicht die Ursache der schlechten Polkörnchenbildung für Glukose sein, da auch Laevulose säuert, aber trotzdem gute Polkörnchen zu bilden vermag.

Zusammenfassung.

1. Auf den synthetischen Nährböden von Braun wurden Diphtheriebakterien, die den Typen I, II und III angehörten, auf Wachstumsintensität und pH-Beeinflussung geprüft. Während sich Typ I mit gutem, Typ III mit geringem Wachstum einheitlich verhielten, zeigte Typ II erhebliche Unterschiede. Einige Stämme wuchsen gut, andere schlecht. Die „anspruchslosen" Diphtheriebakterien nach Braun können demnach nur dem Typ I, vielleicht auch dem Typ II angehören. In der Art des Wachstums war Typ I immer von Typ II und III zu unterscheiden. Dagegen boten schlechtwachsende Stämme des Types II dem Typ III gegenüber keine Unterschiede.

2. Durch Zusatz von Witte-Pepton wurden die Wachstumsdifferenzen bei Typ II ausgeglichen und bei allen Typen und Stämmen ein einheitlich gutes Wachstum erzielt.

3. Zuckerarten beeinflußten das Wachstum sehr unterschiedlich. Glukose bewirkte einheitlich eine Förderung aller Typen, Laktose und Saccharose beeinflußten das Wachstum von I günstig, von III nur wenig. Typ II bot wieder Unterschiede, die mit denen in synthetischem Nährboden meist parallel gehen. Eine weitere Unterteilung des Types II ließ sich jedoch nicht erzielen.

4. Die einzelnen Typen zeigten bei Pepton- und Zuckerzusatz im Wachstum stets die gleichen Charakteristika.

Typ I: Häutchenbildung, durch Flockung getrübte Flüssigkeit, krümeligen Bodensatz.

Typ II: Diffus getrübte Lösung, schleimigen Bodensatz (meist nicht einheitlich).

Typ III: Klare Flüssigkeit, wenig sandartigen Bodensatz.

5. Bei zehn Sacchariden, die sämtlich von Typ I verarbeitet wurden, ergab sich nur bei Glukose, Laevusole, Galaktose und Maltose eine Säuerung. Die Polkörnchenbildung wurde durch Glukose und Galaktose unterbunden, durch Laevulose, Laktose und Arabinose gefördert.

Zum Schluß dieser Arbeit ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Geheimrat Prof. Dr. Kißkalt für den Arbeitsplatz im Hygien. Institut und Herrn Priv.-Doz. Dr. Hettche für die Überlassung des Themas, für seine Anregungen und stete Anteilnahme an meiner Arbeit aufrichtig zu danken.

Schrifttum.

1. Braun H.: Zblt. Bakt. I. Org. 112, 347 (1929).
2. Braun H. u. Mündel Fr.: Zblt. Bakt. I. Org. 103, 182 (1927).
3. Braun H., Hofmeister K., Mündel Fr. Zblt. Bakt. I. Org. 113, 530 (1929).
4. Christison M.: Zblt. Bakt. I. Org. 133, 59 (1934).
5 Clauberg K.: Klin. Wochenschrift 1933 Nr.25.
6. Dimitrijevic-Speth V. und Jovanovic B.: Zblt. Bakt. I. Org. 121, 64 (1931).
7. Gundel M.: Typenlehre in der Mikrobiologie. G. Fischer 1934.
8. Gundel-Tietz: Zeitschr. Hyg. 116, 439 (1934).
9. Hadley P. B. und Gorham F. P., Providence R. J.: Zblt. Bakt. I. Ref. 40 (1907).
10. Hammerschmidt J.: Zblt. Bakt. I. Org. 93, 443 (1924). Deutsche med. Wochenschrift 1924 Nr. 52, 1891.
11. Hettche H. O.: Zeitschr. Hyg. 117, 33 (1935).
12. Lentze F. A.: Zblt. Bakt. I. Org. 118, 51 (1930).
13. Maver M. E.: I. inf. Dis. 47 (1930), 49 (1931).
14. Schloßberger: Zblt. Bakt. I. Org. (Beiheft) 135, 6 (1935).
15. Scmidt Hans: Zblt. Bakt. I. Org. 130, 391 (1933/34).
16. Uschinsky: Zblt. Bakt. 14 (1893).
17. Zupnik L.: Berlin. Klin. Wochenschrift 1897 Nr. 50.

(Die nicht angeführten Autoren siehe unter Schloßberger.)

Lebenslauf.

Am 24. Februar 1911 wurde ich, Erna Dornwaß, als Tochter des Oberzollsekretärs Karl Dornwaß und seiner Ehefrau Martha geb. Winkler zu Leuth (Rheinprovinz) geboren. Von Ostern 1917 bis Ostern 1920 besuchte ich die Volksschule meiner Heimat, von Ostern 1920 bis Dezember 1920 die Familienschule zu Kaldenkirchen und vom Dezember 1920 bis Ostern 1927 das siebenstufige Lyzeum zu Mühlhausen/Thür. Nach Erlangung der Obersekundareife trat ich in die Oberrealschule zu Mühlhausen ein und bestand im März 1930 die Reifeprüfung.

Im Sommersemester 1931 begann ich mit dem Studium der Zahnheilkunde an der Universität Göttingen. Im Mai 1933 bestand ich dort das zahnärztliche Vorexamen und am 18. Mai 1935 das zahnärztliche Staatsexamen vor dem Prüfungsausschuß in Göttingen. Meine Approbation als Zahnärztin erhielt ich am 19. Juli 1935.